Lane Medical Library

Aus dem bakteriologischen Institut in Bern.

Untersuchungen

über das

Abhängigkeitsverhältnis zwischen Länge und Virulenz

der

Diphtheriebacillen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen medizinischen Fakultät der Universität Bern

eingereicht

von

Marie Welitschkina

aus Moskau.

Bern.

Buchdruckerei Stalder & Sieber.

1898.

Untersuchungen

über das

Abhängigkeitsverhältnis zwischen Länge und Virulenz

der

Diphtheriebacillen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen medizinischen Fakultät der Universität Bern

eingereicht

von

Marie Welitschkina

aus Moskau.

Bern.

Buchdruckerei Stalder & Sieber.

1898.

Auf Antrag von Herrn Prof. Dr. v. Tavel von der Fakultät zum Drucke genehmigt.

Bern, den 12. Januar 1898.

Der Dekan der medizinischen Fakultät:
Prof. Dr. Tschirch.

Der specifische Erreger der Diphtherie, der Klebs-Löfflersche Diphtheriebacillus, zeichnet sich durch seine Vielgestaltigkeit und durch den Grössenunterschied der einzelnen Individuen aus. Escherich schildert ihn folgendermassen: «Der von Löffler zuerst aus den Membranen gezüchtete Diphtheriebacillus stellt sich in frischen Kulturen auf Blutserum, Agar oder Bouillon als ein kurzes, plumpes Stäbchen von der Länge des Tuberkelbacillus, aber etwa doppelt so breit, mit abgerundeten Enden dar, dessen eines Ende etwas dicker erscheint als das andere. Sehr viel deutlicher wird diese Keulenform bei etwas längerem Wachstum, und schliesslich zeigen alle oder doch die meisten Bacillen Degenerationsformen, welche die 6—8fache Länge der Stäbchen erreichen, sich krümmen, an einem oder beiden Enden kolbig anschwellen, so dass ungemein mannigfaltige birn-, hantel-, bisquitähnliche, manchmal sogar an Mycelbildungen erinnernde Formen entstehen. Während die jungen Wuchsformen sich mit allen Anilinfarben in wässeriger oder schwach alkalischer Lösung leicht und in toto färben, nehmen bei den Degenerationsformen nur einzelne Stücke oder Körner im Bacillenleibe die Farbe an.» [1])

v. Hoffmann-Wellenhof bezeichnet ihn als «Stäbchen durchschnittlich von der Länge der Tuberkelbacillen, dicker als diese, gerade oder leicht gekrümmt, meist nicht regelmässig cylindrisch, sondern an einem oder auch an beiden

[1]) Die Aetiologie und die Pathologie der Diphtherie. Von Prof. Dr. Escherich in Graz. Wiener Medizinische Wochenschrift 1893. Nr 47. S. 1886.

Enden mehr oder weniger keulenförmig angeschwollen, überhaupt durch grosse Mannigfaltigkeit der Form ganz besonders ausgezeichnet (grosse Unterschiede nicht nur unter verschiedenen äusseren Kulturbedingungen, sondern auch unter den Individuen ein und derselben Kultur.» [1]) Und weiter fährt er fort: «Was mir als das Auffallendste an diesen Bacterien erschien, ist ihre ausserordentliche Variabilität. Die Unterschiede, welche die Individuen an Form und Grösse zeigen, sind so bedeutend, dass man oft nicht glauben möchte, es mit einer reinen Kultur zu thun zu haben.» [2])

Zarnico spricht sich in folgender Weise über die Mannigfaltigkeit der Diphtheriebacillen aus: «Entnimmt man von einer und derselben Kultur des Diphtheriebacillus zu verschiedenen Zeiten Proben zur mikroskopischen Untersuchung, so findet man in der Regel, dass fast kein Präparat dem anderen gleicht. In noch höherem Grade ist dies der Fall, wenn man Kolonien prüft, welche auf verschiedenen Nährböden und unter verschiedenen Bedingungen gewachsen sind. Die Unterschiede sind oft so bedeutend, dass man zunächst an Verunreinigungen denkt. Indessen lehrt eine Prüfung der Kultur durch neu angefertigte Platten alsbald, dass dieselbe lediglich Diphtheriebacillen enthält.» [3])

Fränkel [4]) spricht von Diphtheriebacillen mit Verzweigungen und kolbigen Auftreibungen, die er als «eine Art Riesenwuchs» bezeichnet und die am besten auf Scheiben von hartgekochten Eiern zu erhalten seien.

---

[1]) Untersuchungen über den Klebs-Löfflerschen Bacillus der Diphtherie und seine pathogene Bedeutung. Von Dr. Georg v. Hoffmann-Wellenhof. Wiener Medizinische Wochenschrift 1888. Nr. 3. S. 65.

[2]) Ibid. Wiener Medizinische Wochenschrift 1888. Nr. 4. S. 108.

[3]) Zur Kenntnis des Diphtheriebacillus, von Dr. C. Zarnico. Centralblatt für Bacteorologie und Parasitenkunde. Band 6. Nr. 6. S. 160.

[4]) Fränkel. Eine morphologische Eigentümlichkeit des Diphtheriebacillus. (Hygienische Rundschau. 1895. Nr. 8.) Centralblatt für Bacteorologie und Parasitenkunde. Band 17. Nr. 24/25. S. 896.

Dagegen meint Abbot [1]), dass die Diphtheriebacillen auf demselben Nährboden ziemlich konstant in ihrer Form seien; auch seien sie auf Serum grösser als auf Agar. Wenn sie auf einer Agarkultur auf Serum übertragen werden, so nehmen sie sofort die für diesen Nährboden charakteristische Form an. Auch gilt das Umgekehrte: von Serumkultur auf Agar übertragen, nehmen sie diejenige Form an, die für Agar charakteristisch ist.

Die Länge der Diphtheriebacillen ist auch sehr verschieden. Ich konnte in den fünfzig von mir untersuchten Fällen eine Länge der Diphtheriebacillen von 0,6 μ bis 0,5 μ messen; dabei waren in den meisten Fällen vereinzelte ganz lange Individuen vorhanden, von 10 bis 14 μ. Von den meisten Autoren ist angenommen worden, dass die längeren Diphtheriebacillen auch grössere Virulenz haben, als die kürzeren. So unterscheidet Peters [2]) 4 Abarten des Diphtheriebacillus: 1) der lange Klebs-Löfflersche Bacillus, der nach 24 Stunden 3 μ lang war, lange segmentierte Formen, lange keulenförmige Bacillen und kurze Keulen zeigte. Dieser Bacillus war pathogen für Meerschweinchen und behielt lange seine Pathogenität; 2) der kurze Diphtheriebacillus, der nach 24 Stunden etwa 1,5 μ lang war, auch pathogen für Meerschweinchen war, aber bald seine Virulenz verlor; 3) der kurze Pseudodiphtheriebacillus, 1 μ lang, für Meerschweinchen nicht pathogen; 4) der dem langen Klebs-Löfflerschen Bacillus ähnliche, für Meerschweinchen nicht pathogene Bacillus. Der erste Bacillus fand sich in klinisch schweren Fällen; der zweite in leichteren Diphtheriefällen; der dritte bei follikulärer Mandelentzündung, Scharlach, Rötheln, einfacher Bräune und sonstigen katarrhalischen Zuständen; der vierte Bacillus ist vielleicht die nicht pathogene Form des langen Klebs-

[1]) A. C. Abbot. The etiology of membranous rhinitis (Rhinitis fibrinosa). (The Medical News. 1883. May 13.) Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde. Band 14. Nr. 8. S. 252.

[2]) E. A. Peters. The varieties of diphtheria bacilli. (The Lancet. 1895. Dec. 21. Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde. Band 19. Nr. 16/17. S. 615.

Löfflerschen Bacillus. Dabei geht die eine Varietät in die andere nicht über, auch nicht nach langdauernder Züchtung.

Washbourne [1]) ist auch der Meinung, dass die kurze Varietät des Löfflerschen Bacillus die weniger gefährliche zu sein scheint.

Auch Carl Janson [2]) spricht sich in dem Sinne aus, dass die langen Bacillen die virulentesten sind.

Louis Martin [3]) unterscheidet 3 Formen: 1) lange Bacillen, typisch für Diphtherie; 2) kurze, parallel angeordnete Bacillen; 3) Bacillen von mittlerer Länge, auch parallel angeordnet. Alle diese Bacillen hält der Autor für echte Diphtheriebacillen. Die kurzen Bacillen bezeichnet er als sehr gutartig, die mittleren — als wenig giftig, die langen — als sehr giftig.

Dagegen hat Schuttleworth [4]) gefunden, dass die langen Stäbchen weniger gefährlich als die kurzen seien, dass jedoch eine sichere Prognose auf die Form nicht zu bauen sei.

Klein [5]) hat sich in dem Sinne ausgesprochen, dass sowohl die kurze, als die lange Varietät des Bacillus schwere und leichte Erkrankungen hervorrufen können.

Ebensowenig konnte Nouwelaers [6]) grössere Virulenz der langen Bacillen gegenüber den kurzen bei Tierversuchen feststellen. Doch sagt er, dass beim Menschen die

---

[1]) A series of eighthy cases treated with diphtheria-antitoxin, with observations on their bacteriology; by J. W. Washbourne and A. H. Card. (Transact. of the clin. soc. of London XXVIII. p. 61. 1895.) Schmidts Medizinische Jahrbücher 252. 1896. IV. S. 46.

[2]) Carl Janson, 100 Fälle von pseudomembranöser Angina, besonders auf Diphtheriebacillen untersucht (Klebs-Löffler). (Hygiea. 1893. April. Schwedisch.) Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde. Band 14. Nr. 4/5. S. 143.

[3]) Etudes sur la Diphtherie, par Louis Martin. Annales de l'Institut Pasteur. 1892. Nr. 5. P. 339.

[4]) E. B. Schuttleworth. Laboratory notes on the bacteriology of diphtheria. [The Lancet. 1895. Sept. 14.) Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde. Band 14. Nr. 16/17. S. 616.

[5]) A discussion on the diagnosis of doubtful cases of diphtheria and the use of bacteriology for that purpose. 63 annual meeting of the British med. Association. (Brit. med. Journ. Aug. 31. 1895.) Schmidts medizinische Jahrbücher 251. 1896. III. S. 29.

[6]) Statistique de Diphtherie, par le Dr. Nouwelaers. (Journ. de Brux. LIII. 23. 1895.) Schmidts mediz. Jahrbüeher 248. 1895 IV. S. 36.

klinisch schwereren Formen der Erkrankung mehr durch die langen Bacillen hervorgerufen zu werden scheinen.

Alle Autoren stimmen daran überein, dass die alten Kulturen ihre ursprüngliche Virulenz verlieren und sie nach erneuter Züchtung auf frischem Nährboden wiedergewinnen. Welchen Einfluss aber auf die Virulenz der Diphtheriebacillen die wiederholte Ueberimpfung hat, darüber konnte ich nur weniges in der Litteratur finden. Und alle Autoren sind hierin der Meinung, dass die wiederholte Ueberimpfung die Virulenz nicht beeinträchtige. Löffler[1]) hat eine Reinkultur von Diphtheriebacillen 77 Mal während 27 Monaten überimpft und hat dabei gefunden, dass diese Kultur ihre Virulenz nicht verloren hatte.

Spronek[2]) hat bei seinen Versuchen gefunden, dass die Tochterkulturen eingetrockneter Bacillen stets die nämliche volle Virulenz, wie frische Kulturen zeigen, auch nach 150facher Umzüchtung.

Nach Versuchen von Ortmann und Sauster «erwiesen sich gleichfalls die Kulturen nach 5 bis 6 Wochen noch ebenso virulent, wie im Anfang. Die Uebertragung erfolgte täglich auf erstarrtem Serum; alle 6—8 Tage wurden die Tierversuche wiederholt.»[3])

v. Hoffmann-Wellenhof spricht sich auch in folgender Weise aus: «Virulente Kulturen hatten nach 4 Wochen die Virulenz wenigstens grösstenteils eingebüsst, während die von den alten Kulturen abgenommenen Tochterkulturen wieder den früheren hohen Virulenzgrad zeigten (so sind die frisch angelegten 2—5 Tage alten Kulturen eines Falles heute in der etwa 30. Generation — immer nur auf künst-

[1]) Der gegenwärtige Stand der Frage nach der Entstehung der Diphtherie, von Prof. F. Löffler. Deutsche Medizinische Wochenschrift. 1890. Nr. 5. S. 82.

[2]) Zur Kenntnis der pathogenen Bedeutung des Klebs-Löfflerschen Diphtheriebacillus, von Spronek in Utrecht. Centralblatt für allg. Pathol. u. pathol. Anat. I 7. 217. 1890.

[3]) Ortmann und Sauster, Beitrag zur Lokalisation des Diplococcus Pneumoniae (Fränkel). Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde. Band 8. Nr. 6. S. 179.

lichem Nährboden weitergezüchtet! — noch gerade so virulent, wie die Stammkultur vor über 20 Monaten war.»)[1])

* * *

Nach der Anleitung von Herrn Professor v. Tavel unternahm ich in seinem Laboratorium Versuche, welche den Zweck hatten, klarzulegen: 1) Ob Beziehungen zwischen der Länge der Diphtheriebacillen und ihrer Virulenz bestehen. 2) Den Einfluss der wiederholten Ueberimpfung auf die Virulenz der Diphtheriekulturen. 3) Das Verhältnis zwischen der Dicke der Bacillen und ihrer Virulenz. 4) Den eventuellen Parallelismus zwischen der Dicke des Häutchens auf der Oberfläche der Bouillonkulturen und der Virulenz der Bacillen. 5) Die Beziehung zwischen dem Aussehen der Kolonien und der Virulenz der Bacillen.

Zu diesem Zwecke habe ich 50 Fälle, die ich aus der schweizerischen Diphtherieenquête durch Vermittlung des Herrn Professor v. Tavel erhielt, untersucht. Es sei mir gestattet, an dieser Stelle dem Herrn Professor v. Tavel für das mir bezeugte Entgegenkommen, sowie für seine stetige bereitwillige Anleitung bei meiner Arbeit, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

In diesen Fällen wurde die klinische Diagnose immer auf Diphtherie gestellt. Meine Versuche habe ich in folgender Weise angestellt: Die Kulturen, welche ich aus der Diphtherieenquête, — gewöhnlich nach eintägigem Wachstum im Brütraum, bei der Temperatur von 37°, — bekam, waren Mischkulturen, welche ich auf Glycerinagar oder Normal-Pferdeserum nach Löffler isolierte, was gewöhnlich nach ein paar Ueberimpfungen gelang. Nach der Isolierung auf Glycerinagar überimpfte ich die Kulturen auf Serum, und dann vom Serum auf Bouillon, die mit 1—2% Calcaria carbonica versetzt wurde. Die Rea-

[1]) Untersuchungen über den Klebs-Löfflerschen Bacillus der Diphtherie und seine pathogene Bedeutung. Von Dr. Georg v. Hoffmann-Wellenhof. Wiener Medizinische Wochenschrift. 1888. Nr. 4. S. 110.

gensröhrchen mit den Bouillonkulturen wurden in einem Gestell schräg gelegt, damit die Bacillen auf einer grösseren Oberfläche sich entwickeln könnten. Die Kulturen blieben 8 Tage im Brütraum, bei der Temperatur von 37°. Nach 8 Tagen wurden von mir aus jeder Kultur und allen Nährböden (Glycerinagar, Serum und Bouillon) die mikroskopischen Präparate hergestellt und die Länge der Bacillen mit dem Mikrometer gemessen. Die Bacillen waren dabei gewöhnlich sehr verschieden an Länge, doch war in jedem Präparate die eine oder andere Bacillenart vorherrschend. Häufig fanden sich einzelne ganz lange Bacillen, von 10—14 μ. Auch waren die Bacillen manchmal je nach den verschiedenen Nährböden etwas verschieden. Nachdem ich mich überzeugt hatte, dass ich mit einer Reinkultur zu thun hatte, impfte ich Meerschweinchen mit den achttägigen Kulturen, und zwar habe ich für jeden der 50 Fälle 3 Meerschweinchen gebraucht; wenn jedoch das betreffende Tier nach Impfung mit der kleineren Dosis starb, so impfte ich meistens kein weiteres Tier mit stärkeren Dosen von diesem Falle. Die Dosen habe ich dabei so ausgerechnet, dass auf je 300 gr. Meerschweinchen 0,1 cm^3, 0,5 cm^3 und 2 cm^3 der Bouillonkultur eingespritzt wurden. Je nach Bedürfnis verdünnte ich die Bouillonkulturen mit abgemessenen Mengen von sterilisiertem Wasser. Die Einspritzung wurde subcutan in die Leistengegend mit der v. Tavel'schen Spritze ausgeführt. Nach dem Tode der Meerschweinchen wurde die Sektion vorgenommen und alle Ergüsse auf die Gegenwart von Diphtheriebacillen mikroskopisch untersucht. Bei der Sektion fand ich immer haemorrhagische subcutane Oedeme an der Impfstelle; in denjenigen Fällen, wo der Tod nach mehreren Tagen erfolgte, waren an der Impfstelle keine Oedeme, sondern derbe, fast knorpelharte Schwarten vorhanden. Später wurden diese Schwarten auch nekrotisch. In den Leibeshöhlen, — Peritonealhöhle, Pleuraräume,

Pericardialhöhle — waren auch blutige Ergüsse zu finden; ferner in einigen Fällen Lungeninfiltrationen nachzuweisen. Das Peritoneum war häufig injiziert. Die Bacillen waren mikroskopisch nur an der Impfstelle zu finden; in den inneren Organen dagegen habe ich sie kein einziges Mal nachweisen können Zwanzig von den untersuchten 50 Fällen wurden, nach der Isolierung und Umzüchtung auf Normal-Pferdeserum nach Löffler, mehrmals alle Tage oder alle zwei Tage auf Bouillon überimpft, und hierauf die Bouillonkultur für 8 Tage schräg gelegt, wie die nicht überimpften Kulturen. Vor der Impfung der Meerschweinchen wurden die frischen Bouillons mit allen achttägigen Bouillonskulturen infiziert und 8 Tage lang unberührt im Brütraume bei 37° aufrecht gestellt gelassen. Auf diesen letzteren Kulturen habe ich die Zeit der ersten Bildung eines dünnen Häutchens auf der Oberfläche der Bouillon und den Dickenwachstum dieses Häutchens nach 8 Tagen beobachtet. Die Meerschweinchen hatte Herr Dr. Schmid, Direktor des eidgenössischen Gesundheitsamtes, die Güte, mir aus dem Kredit der Diphtherieenquête in zuvorkommender Weise zur Verfügung zu stellen.

Meine Versuche habe ich in folgender Tabelle dargestellt:

Alle diese Fälle kann man nach der Länge der Diphtheriebacillen in 3 Gruppen teilen. 1) Lange, die mehr als 3,5 μ lang sind; 2) mittellange, 2—3,5 μ lang; 3) kurze, deren Länge zwischen 0,6 –2 μ schwankt. Dabei sind in den meisten Kulturen, besonders in denen der zwei ersten Gruppen, einzelne Bacillen vorhanden, die bedeutend länger als die anderen sind.

I. Gruppe. Lange Bacillen.

Nicht überimpfte.

Nr.	Nr. der Tabelle	Länge auf Bouillon	Tierversuch 0,1 cm³	0,5 cm³	2 cm³ gestorben nach Tagen
1	1	**4,5-5** μ — 14 μ	2	2	2
2	34	**4,5-5** — 7	18	3	
3	35	**3,5-4** — 10	3		
4	39	**5** — 8	5		
5	40	**4-4,5** — 8	—	—	4
6	43	**3,5-4** — 8	3		
7	44	**3,5-4** — 6	-	6	
8	49	**4,5** — 10	3	2	1

Ueberimpfte.

9	12	**3,5-4,5** — 8	2	2	
10	19	**3,5-4** — 7	—	30	1
11	20	**3,5-4** — 4,5	4	3	
12	23	**4,5-5** — 8	10	3	
13	24	**3,5-4** — 5	—	—	4
14	25	**3,5-4** — 6	—	3	2
15	28	**5** — 10	10	2	
16	29	**3,5-4** — 8	—	—	7
17	31	**4-4,5** — 10	6	3	2

II. Gruppe. Mittellange Bacillen.

Nicht überimpfte.

Nr.	Nr. der Tabelle	Länge auf Bouillon	Tierversuch 0,1 cm³ gestorben nach Tagen	0,5 cm³	2 cm³
1	2	**2,5-3 μ — 14 μ**	—	5	3
2	4	**2-3 — 7**	4	2	2
3	5	**2-3 — 8**	2	2	1
4	6	**3 — 5**	2	2	1
5	9	**2-3 — 7**	2	2	1
6	10	**3,5 — 4,5**	—	2	1
7	11	**2-2,5 — 7**	3	2	
8	33	**3 — 8**	11	8	
9	36	**2,5-3 — 8**	—	14	2
10	38	**2,5 — 4**	—	—	—
11	41	**2,5-3 — 6**	—	—	3
12	45	**2,5-3 — 4,5**	2		
13	46	**2,5-3 — 7**	2	3	1
14	47	**2,5-3 — 7**	5	4	1
15	48	**2,5 — 4,5**	2	1	1
16	50	**2-2,5 — 4,5**	—	2	1

Ueberimpfte.

17	13	**2,5-3 — 5**	2		
18	14	**3 — 7**	2		
19	15	**2,5-3 — 5**	7	2	
20	18	**2,5-3 — 7**	—	2	2
21	21	**2,5-3 — 7**	16	7	
22	26	**2,5-3 — 5**	—	—	—
23	27	**2,5-3 — 7**	—	3	2

III. Gruppe. Kurze Bacillen.

Nicht überimpft.

Nr.	Nr. der Tabelle	Länge auf Bouillon	Tierversuch 0,1 cm³	0,5 cm³	2 cm³ gestorben nach Tagen
1	7	**1,2 μ** — 5 μ	—	—	—
2	8	**0,6-1,5** —	—	—	—
3	30	**1,5** — 3	—	—	—
4	32	**1,5-2** — 3	6	2	1
5	37	**1,5-2** — 3	—	10	2
6	42	**1-1,5** — 3			—
		Ueberimpft.			
7	3	**1-1,5** — 3	—	—	—
8	16	**1-5,2** — 3	—	—	—
9	17	**1-1,5** — 2,5	—	—	—
10	22	**1,5-2** — 7	—	—	—

Aus diesen Tabellen können wir folgendes ersehen: In der ersten Gruppe sind von 17 Fällen 11 Meerschweinchen an 0,1 cm³ gestorben (d. h. 64,5 %). Von der Impfung 0,5 cm³ sind 3 Meerschweinchen nicht gestorben (d. h. 17,6 %), An 2 cm³ sind alle Meerschweinchen gestorben, die nicht schon an einer kleineren Dosis gestorben waren. In der zweiten Gruppe sind von 23 Fällen an 0,1 cm³ 14 Meerschweinchen gestorben (d. h. 60,9 %). An 5 cm³ sind 3 Meerschweinchen nicht gestorben (d. h. 13 %). In zwei Fällen sind auch Meerschweinchen an 2 cm³ nicht gestorben. In der dritten Gruppe sind die Meerschweinchen nur in zwei Fällen gestorben: in dem einen nur an den grösseren Dosen (0,5 und 2 cm³), in dem anderen auch an 0,1 cm³.

Also ist der Unterschied in der Virulenz zwischen den langen und mittellangen Bacillen kein grosser. Dagegen haben sich die kurzen Bacillen fast alle als ungiftig erwiesen. Wenn wir lange und mittellange Fälle zusammen-

rechnen und den kurzen gegenüberstellen, so wird der Unterschied ganz auffallend. Es erweist sich dann, dass aus 40 Fällen von teils langen, teils mittellangen Bacillen 25 Meerschweinchen von der Impfung 0,1 cm³ gestorben sind, was 62,5 % ausmacht An 0,5 cm³ sind 6 Meerschweinchen nicht gestorben, was 15 % ausmacht. Nur in zweien aus den 40 Fällen sind die Meerschweinchen auch an 2 cm³ nicht gestorben. Dagegen unter den 10 kurzen Fällen haben sich nur 2 Fälle als pathogen erwiesen.

Aus denselben Tabellen können wir auch den Einfluss der wiederholten Ueberimpfung auf die Virulenz der Bacillen verfolgen. Zu diesem Zwecke vergleichen wir die beiden Abteilungen jeder Gruppe mit einander. In der ersten Gruppe aus 8 nicht überimpften Fällen sind 6 Meerschweinchen an 0,1 cm³ gestorben, oder $^3/_4$ derselben. Aus 9 nicht überimpften Fällen sind an derselben Dosis 5 Meerschweinchen gestorben, oder etwas mehr als die Hälfte von allen geimpften. An der Dosis 0,5 cm³ ist in der ersten Abteilung nur ein Meerschweinchen nicht gestorben. In der zweiten Abteilung sind an derselben Dosis zwei Meerschweinchen nicht gestorben und eines der Tiere erst nach 30 Tagen. Der Unterschied in der Virulenz zwischen den überimpften und den nicht überimpften Fällen ist hier nicht sehr gross, aber doch zu bemerken.

In der zweiten Gruppe sind aus 16 nicht überimpften Fällen 10 Meerschweinchen an der Dosis 0,1 cm³ gestorben. Aus 7 überimpften Fällen sind an derselben Dosis 4 Meerschweinchen gestorben. An der Dosis 0,5 cm³ sind in der ersten Abteilung 2 Meerschweinchen von 16 nicht gestorben; in der zweiten Abteilung ist an derselben Dosis ein Meerschweinchen von 7 nicht gestorben. Und in den beiden Abteilungen hat sich je ein Fall als vollkommen nicht virulent erwiesen, so dass die Meerschweinchen auch an 2 cm³ nicht gestorben sind. In dieser Gruppe ist ein Unterschied in der Virulenz bei einesteils frischen, andernteils

wiederholt überimpften Fällen gar nicht zu bemerken. In der dritten Gruppe sind nur zwei Fälle virulent, und diese Fälle gehören auch zu den frisch eingespritzten, nicht überimpften.

In der folgenden Tabelle sind alle Fälle mit wiederholter Ueberimpfung zusammengestellt und zwar in zwei Gruppen gesondert. Die erste Gruppe bilden solche Fälle, die alle Tage, die zweite diejenigen Fälle, die alle zwei Tage überimpft wurden.

I. Gruppe.

Nr.	Nr. der Tabelle	Länge d. Bacillen auf Bouillon	Tierversuch 0,1 cm³ gestorb. nach Tagen	0,5 cm³	2 cm³	Ueberimpft Alle Tage,	Alle 2 Tage
1	3	Kurz	—	—	—	13 Mal	—
2	12	Lang	2	2	—	26	—
3	13	Mittellang	2	—	—	24	—
4	14	Mittellang	2	—	—	28	—
5	15	Mittellang	7	2	—	19	—
6	16	Kurz	—	—	—	34	—
7	17	Kurz	—	—	—	25	—
8	18	Mittellang	—	2	2	18	—
9	19	Lang	—	30	1	30	—
10	20	Lang	4	3	—	33	—

II. Gruppe.

1	21	Mittellang	16	7	—	31	7
2	22	Kurz	—	—	—	30	7
3	23	Lang	10	3	—	25	10
4	24	Lang	—	—	4	27	8
5	25	Lang	—	3	2	14	16
6	26	Mittellang	—	—	—	12	13
7	27	Mittellang	—	3	2	12	16
8	28	Lang	10	2	—	—	6
9	29	Lang	—	—	7	—	3
10	31	Lang	6	3	2	—	9

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, dass der Unterschied in Bezug auf die Virulenz zwischen diesen beiden Gruppen ziemlich bedeutend ist. Trotzdem, dass in der ersten Gruppe mehr kurze Fälle sind als in der zweiten, sind in der ersten Gruppe an 0.1 cm³ 5 Meerschweinchen von 10 gestorben. In der zweiten Gruppe sind an derselben Dosis 6 Meerschweinchen von 10 gestorben, und auch nach längerer Zeit als in der ersten Gruppe (nach 16 10, 10 und 6 Tagen). Und zwar gehören in der ersten Gruppe 3 Fälle von den fünf, in denen die Meerschweinchen nicht gestorben sind, zu den kurzen Fällen; dann ist ein Fall ein mittellanger und einer ein langer. In der zweiten Gruppe ist von den 6 Fällen, in denen die Meerschweinchen an 0,1 cm³ nicht gestorben sind, nur ein Fall ein kurzer, 3 Fälle sind lange und 2 mittellange.

Um das Verhältnis zwischen der Dicke der Bacillen und ihrer Virulenz festzustellen, habe ich in den folgenden Tabellen die untersuchten Fälle nach der Dicke der Bacillen in 3 Gruppen gesondert, in: 1) dicke, 2) mitteldicke und 3) dünne.

I. Gruppe. Dicke Bacillen.

Nr.	Nr. der Tabelle	Länge der Bacillen auf Bouillon	Tierversuch 0,1 cm³ gestorben nach Tagen	0,5 cm³	2 cm³
1	3	Kurz	—	—	—
2	8	Kurz	—	—	—
3	16	Kurz	—	—	—
4	19	Lang	—	30	1
5	21	Mittellang	16	7	—
6	24	Lang	—	—	4
7	28	Lang	10	2	—
8	33	Mittellang	11	8	—
9	41	Mittellang	—	—	3

II. Gruppe. Mitteldicke Bacillen.

Nr.	Nr. der Tabelle	Länge der Bacillen auf Bouillon	Tierversuch 0,1 cm³ gestorben nach Tagen	0,5 cm³	2 cm³
1	1	Lang	2	2	2
2	2	Mittellang	—	5	3
3	4	Mittellang	4	2	2
4	5	Mittellang	2	2	1
5	6	Mittellang	2	2	1
6	10	Mittellang	—	2	1
7	11	Mittellang	3	2	—
8	12	Lang	2	2	—
9	13	Mittellang	2	—	—
10	17	Kurz	—	—	—
11	18	Mittellang	—	2	2
12	20	Lang	4	3	—
13	22	Kurz	—	—	—
14	25	Lang	—	3	2
15	26	Mittellang	—	—	—
16	27	Mittellang	—	3	2
17	29	Lang	—	—	7
18	30	Kurz	—	—	—
19	31	Lang	6	3	2
20	32	Kurz	6	2	1
21	34	Lang	18	3	—
22	35	Lang	3	—	—
23	36	Mittellang	—	14	2
24	37	Kurz	—	10	2
25	38	Mittellang	—	—	—
26	40	Lang	—	—	4
27	43	Lang	3	—	—
28	44	Lang	—	6	—
29	45	Mittellang	2	—	—
30	46	Mittellang	2	3	1
31	47	Mittellang	5	4	1
32	48	Mittellang	2	1	1
33	50	Mittellang	—	2	1

III. Gruppe. Dünne Bacillen.

Nr.	Nr. der Tabelle	Länge der Bacillen auf Bouillon	Tierversuch gestorben nach Tagen 0,1 cm³	0,5 cm³	2 cm³
1	7	Kurz	—	—	—
2	9	Mittellang	2	2	1
3	14	Mittellang	2	—	—
4	15	Mittellang	7	2	—
5	23	Lang	10	3	—
6	39	Lang	5	—	—
7	42	Kurz	—	—	—
8	49	Lang	3	2	1

Aus diesen Tabellen ergibt sich, dass die erste Gruppe relativ mehr kurze Fälle (3 von 9), als die zweite Gruppe (5 von 33) enthält. Auch sind die langen und mittellangen Fälle der ersten Gruppe weniger virulent, als in der zweiten und dritten. In der ersten Gruppe sind nur 3 Meerschweinchen von 9 an der Dosis 0,1 cm³ und erst nach längerer Zeit (16, 10 und 11 Tagen) gestorben. An der Dosis 0,5 cm³ sind 4 Tiere und zwar nach 30, 7, 2 und 8 Tagen gestorben. 3 kurze Fälle haben sich als nicht pathogen erwiesen. In der zweiten Gruppe von 33 Tieren sind 17 an der Dosis 0,1 cm³ gestorben; an der Dosis 0,5 cm³ sind 7 Tiere nicht gestorben, und 5 Fälle stellten sich als nicht pathogen heraus. In der dritten Gruppe von 8 Fällen sind 2 kurze nicht pathogen. In den übrigen 6 Fällen starben die Tiere schon an der Dosis 0,1 cm³. Es stellt sich heraus, dass die Kulturen der ersten Gruppe etwas weniger virulent sind, als diejenigen der zwei anderen Gruppen. Dagegen ist kein genauer Unterschied in der Virulenz zwischen mitteldicken und dünnen Bacillen zu ersehen.

Bevor ich zu den weiteren Auseinandersetzungen übergehe, möchte ich hier meine Beobachtungen über die Bildung eines Häutchens auf der Oberfläche der Bouillon-

kulturen anführen. Die 6 von mir, je nach der Dicke des Häutchens, gebrauchten Bezeichnungen sind: sehr dick, dick, ziemlich dick, ziemlich dünn, dünn, sehr dünn. In den folgenden Tabellen sind alle Fälle in 6 Gruppen nach diesen Bezeichnungen geteilt.

I. Gruppe.

Nach 8 Tagen hat sich ein sehr dickes Häutchen gebildet.

Nr.	Nr. der Tabelle	Länge der Bacillen auf Boullion	Tierversuch 0,1 cm³ gestorben n. Tagen	0,5 cm³	2 cm³	Das Häutchen hat sich gebildet nach Tagen
1	1	Lang	2	2	2	3
2	2	Mittellang	—	5	3	3
3	14	Mittellang	2	—	—	1
4	22	Kurz	—	—	—	1
5	23	Lang	10	3	—	3
6	27	Mittellang	—	2	2	1
7	28	Lang	10	2	—	1
8	40	Lang	—	—	4	1
9	47	Mittellang	5	4	1	2
10	49	Lang	3	2	1	1
11	50	Mittellang	—	2	1	1

II. Gruppe.

Nach 8 Tagen hat sich ein dickes Häutchen gebildet.

1	12	Lang	2	2	—	1
2	19	Lang	—	30	1	3
3	31	Lang	6	3	2	1
4	34	Lang	18	3	—	1
5	35	Lang	3	—	—	1
6	38	Mittellang	—	—	—	3

III. Gruppe.

Nach 8 Tagen hat sich ein ziemlich dickes Häutchen gebildet.

1	10	Mittellang	—	2	1	1
2	11	Mittellang	3	2	—	1
3	13	Mittellang	2	—	—	1

Nr.	Nr. der Tabelle	Länge der Bacillen auf Bouillon	Tierversuch 0,1 cm³ gestorben n. Tagen	0,5 cm³	2 cm³	Das Häutchen hat sich gebildet nach Tagen
4	15	Mittellang	7	2	—	3
5	25	Lang	—	3	2	1
6	26	Mittellang	—	—	—	4
7	30	Kurz	—	—	—	1
8	36	Mittellang	—	14	2	1
9	42	Kurz	—	—	—	3
10	48	Mittellang	2	1	1	2

IV. Gruppe.

Nach 8 Tagen hat sich ein ziemlich dünnes Häutchen gebildet.

1	7	Kurz	—	—	—	3
2	8	Kurz	—	—	—	3
3	20	Lang	4	3	—	2
4	24	Lang	—	—	4	4
5	33	Mittellang	11	8	—	1
6	37	Kurz	—	10	2	1
7	44	Lang	—	6	—	1
8	45	Mittellang	2	—	—	1
9	46	Mittellang	2	3	1	1

V. Gruppe.

Nach 8 Tagen hat sich ein dünnes Häutchen gebildet.

1	6	Mittellang	2	2	1	5
2	9	Mittellang	2	2	1	2
3	16	Kurz	—	—	—	1
4	21	Mittellang	16	7	—	1
5	32	Kurz	6	2	1	3
6	39	Lang	5	—	—	2
7	41	Mittellang	—	—	3	3
8	43	Lang	3	—	—	2

VI. Gruppe.

Nach 8 Tagen hat sich ein sehr dünnes Häutchen gebildet.

Nr.	Nr. der Tabelle	Länge der Bacillen auf Bouillon	Tierversuch 0,1 cm³ gestorben n. Tagen	Tierversuch 0,5 cm³ gestorben n. Tagen	Tierversuch 2 cm³ gestorben n. Tagen	Das Häutchen hat sich gebildet nach Tagen
1	3	Kurz	—	—	—	4
2	4	Mittellang	4	2	2	3
3	5	Mittellang	2	2	1	5
4	17	Kurz	—	—	—	4
5	18	Mittellang	—	2	2	3
6	29	Lang	—	—	7	3

Aus diesen Tabellen ergibt sich, dass kein genaues Verhältnis zwischen der Virulenz der Diphtheriebacillen und der Häutchenbildung auf der Oberfläche der Bouillonkulturen besteht. Es gibt sowohl nicht virulente Fälle mit dicken Häutchen (in den 3 ersten Gruppen), als auch sehr virulente Fälle mit dünnem Häutchen (in den 3 letzten Gruppen). Es ist nur zu bemerken, dass in den 3 letzten Gruppen relativ mehr kurze Fälle (7 kurze aus 23), als in den 3 ersten (3 kurze aus 27) sind; in der VI. Gruppe mit sehr dünner Häutchenbildung ist nur ein einziger langer Fall und auch dieser ist wenig virulent. Aber auch in dieser Beziehung besteht keine ausgesprochene Regelmässigkeit. Nur ist zu bemerken, dass im ganzen das Häutchen, je dünner es ist, desto später sich bildet.

Was das Aussehen der Kolonien betrifft, so habe ich dasselbe auf Glycerinagar, wo sie am meisten charakteristisch sind, beobachtet. In 2 Fällen (15 und 28), in welchen die Kulturen auf Glycerinagar gar nicht wuchsen, wurde bei der Zusammenstellung der Tabellen das Aussehen der Kolonien nicht berücksichtigt. Sämtliche Fälle habe ich versucht, je nach dem Aussehen der Kolonien, in 7 Typen einzuteilen: I. Typus. Die Kolonien sind gross, platt, mit einem Nabel. II. Typus. Die Kolonien sind klein, platt, mit einem Nabel. III. Typus. Die Kolonien sind gross,

gewölbt, mit einem Nabel. IV. Typus. Die Kolonien sind klein, gewölbt, mit einem Nabel. V. Typus. Die Kolonien sind gross, gewölbt, ohne Nabel. VI. Typus. Die Kolonien sind klein, gewölbt, ohne Nabel. VII. Typus. Die Kolonien sind ausserordentlich klein, nur mit Hülfe der Loupe zu sehen, und weder die Form, noch der Nabel zu unterscheiden.

I. Typus.

Die Kolonien sind gross, platt, mit einem Nabel.

Nr.	Nr. der Tabelle	Länge der Bacillen auf Bouillon	Tierversuch 0,1 cm³ gestorben nach Tagen	0,5 cm³	2 cm³
1	1	Lang		2	2
2	4	Mittellang	4	2	2
3	5	Mittellang	2	2	1
4	9	Mittellang	2	2	1
5	10	Mittellang	—	2	1
6	14	Mittellang	2	—	—
7	19	Lang	—	30	1
8	22	Kurz	—	—	—
9	31	Lang	6	3	2
10	33	Mittellang	11	8	—
11	49	Lang	3	2	1

II. Typus.

Die Kolonien sind klein, platt, mit einem Nabel.

1	2	Mittellang	—	5	3
2	6	Mittellang	2	2	1
3	7	Kurz	—	—	—
4	11	Mittellang	3	2	—
5	20	Lang	4	3	—
6	23	Lang	10	3	—
7	24	Lang	—	—	4
8	25	Lang	—	3	2
9	29	Lang	—	—	7

Nr.	Nr. der Tabelle	Länge der Bacillen auf Bouillon	Tierversuch 0,1 cm³ gestorben nach Tagen	0,5 cm³	2 cm³
10	30	Kurz	—	—	—
11	35	Lang	3	—	—
12	37	Kurz	—	10	2
13	41	Mittellang	—	—	3
14	45	Mittellang	2	—	—
15	46	Mittellang	2	3	1
16	48	Mittellang	2	1	1
17	50	Mittellang	—	2	1

III. Typus.

Die Kolonien sind gross, gewölbt, mit einem Nabel.

1	3	Kurz	—	—	—
2	8	Kurz	—	—	—
3	16	Kurz	—	—	—
4	18	Mittellang	—	2	2
5	21	Mittellang	16	7	—
6	38	Mittellang	—	—	—

IV. Typus.

Die Kolonien sind klein, gewölbt, mit einem Nabel.

1	34	Lang	18	3	—
2	36	Mittellang	—	14	2
3	40	Lang	—	—	4
4	42	Kurz	—	—	—
5	43	Lang	3	—	—
6	47	Mittellang	5	4	1

V. Typus.

Die Kolonien sind gross, gewölbt, ohne Nabel.

1	12	Lang	2	2	—
2	13	Mittellang	2	—	—
3	17	Kurz	—	—	—

VI. Typus.

Die Kolonien sind klein, gewölbt, ohne Nabel.

1	26	Mittellang	—	—	—
2	27	Mittellang	—	3	—
3	39	Lang	5	—	—

VII. Typus.

Die Kolonien sind ausserordentlich klein, weder die Form, noch der Nabel sind zu unterscheiden.

Nr.	Nr. der Tabelle	Länge der Bacillen auf Bouillon	Tierversuch gestorben nach Tagen 0,1 cm³	0,5 cm³	2 cm³
1	32	Kurz	6	2	1
2	44	Lang	—	6	—

Aus diesen Tabellen kann man keinen Zusammenhang zwischen dem Aussehen der Kolonien und der Virulenz der Bacillen konstatieren. Nur ist zu bemerken, dass die Kolonien vom III. Typus (gross, gewölbt, mit einem Nabel) relativ häufiger als die anderen von den kurzen Bacillen gebildet sind.

* * *

Auf Grund meiner Versuche erlaube ich mir folgende Schlüsse zu ziehen:

1. Die lange Varietät der Diphtheriebacillen ist viel virulenter als die kurze. Aber der Unterschied in der Virulenz zwischen den langen und mittleren Bacillen ist kein grosser. Ein merklicher Unterschied in der Virulenz war nur zwischen den langen Bacillen, d. h. denjenigen, die länger, nach achttägigem Wachstum im Brütraum, als 2 μ waren, und den kurzen, d. h. denjenigen, die kürzer als 2 μ waren, zu konstatieren.

2. Die regelmässige täglich wiederholte Ueberimpfung vermindert, wenn auch nur wenig, die Virulenz. Dagegen nimmt die Virulenz bei alle zwei Tage wiederholter Ueberimpfung mehr ab.

3. Die dickeren Bacillen scheinen etwas weniger virulent zu sein, als die dünneren

4. Es besteht kein Parallelismus zwischen der Virulenz der Diphtheriekulturen und der Häutchenbildung auf der Oberfläche der Bouillon.

5. Es besteht kein Zusammenhang zwischen dem Aussehen der Kolonien und der Virulenz der sie bildenden Bacillen.